Cat No. 08199-96

取　扱　説　明　書

分子生物学用

シカジーニアス® DNA 抽出試薬 AN

1. はじめに

シカジーニアス® DNA 抽出試薬 AN は、動物試料からゲノム DNA を効率よく抽出するための試薬です。本試薬と試料を混合し、インキュベートするだけの簡単な操作で PCR 等の遺伝子増幅反応に使用可能なテンプレート DNA が調製できます。

本試薬は、試料に由来する PCR 阻害物質の作用を抑制する働きが極めて強いのが特徴であり、マウス尻尾等の血液成分を含む試料からの抽出に特に優れています。

2. 製品形態

製品名	シカジーニアス® DNA 抽出試薬 AN (Cica Geneus® DNA Extraction Reagent AN)
製品番号	08199-96
容量	120 回分
保管温度	2－8 ℃

3. キットの構成

品名	容量･本数
試薬 a 液	1.2 ml × 1
試薬 b 液	12.0 ml × 1
取扱説明書	1 部

4. 原理

シカジーニアス® DNA 抽出試薬 AN は、生体膜を速やかに可溶化する成分を含んでいます。さらに、PCR を阻害するイオン性の夾雑物を電気的に中和する働きもあり、夾雑物による PCR への影響が低減できます。そのため、血液成分等の夾雑物を多く含む試料であっても、本試薬を用いて抽出したゲノム DNA は、精製操作を行うことなく PCR 等のテンプレートとしてそのまま使用可能です。本試薬は長期間保存できるように濃縮液として供給しており、使用直前に 2 液を混合してご使用下さい。なお、消防法、毒物及び劇物取締法等に該当しません。

5. 適用範囲

動物組織（マウス尻尾等）、血液等

6. 試薬の準備

本試薬は使用する前にシカジーニアス® DNA 抽出試薬 AN の試薬 a 液および試薬 b 液を静かに転倒混和して下さい。次いで、試薬 a 液、試薬 b 液を 1:10 の比率で混合し、DNA 抽出試薬混合液を調製して下さい（表 1）。

表 1. DNA 抽出試薬混合液の調製例

検体数	試薬 a 液（μl）	試薬 b 液（μl）
1	10	100
10	100	1,000
50	500	5,000
120	1,200	12,000

7. 標準プロトコール（PCR 試料作製）

1) 先に調製した DNA 抽出試薬混合液 100 μl を 200 μl 容のマイクロチューブに入れます。
2) 適当なサイズに切断した試料を上記マイクロチューブに入れ、スピンダウンします（使用上の注意事項の 1）、2)参照）。
3) 65℃で 6 分間インキュベートします。
4) 94℃で 3 分間インキュベートします。
5) この反応液を遠心分離し（10,000×*g*、5 分間）、上清をテンプレート DNA とします。

8. 使用上の注意事項

1) 細かく切断した試料をご使用いただくことで、より効率よくゲノム DNA を抽出することができます。
2) 血液等の液状試料の場合は 1～10 μl を目安にして下さい（適宜調整して下さい）。
3) 試料の量に応じて、添加する DNA 抽出試薬混合液の量を適宜調整することもできます。
4) 標準プロトコールにてゲノム DNA が抽出できない場合は、65℃のインキュベート時間を延長する（例えば 20 分間）ことで改善されることがあります。
5) PCR に供するテンプレート DNA 溶液は、総液量の 10%以下として下さい。
6) 試料や PCR 酵素の種類によっては、PCR が阻害されることがあります。この場合、テンプレート DNA 溶液を適宜希釈するか、PCR 反応液にマグネシウム塩を添加することで改善されることがあります（終濃度として 2 mmol/l 程度を目安として適宜調整して下さい）。
7) テンプレート DNA 溶液は使用まで冷蔵で保存し、早めにご使用下さい。また、直ちに使用しない場合は、冷凍（-20℃）にて保管して下さい。
8) 本試薬は試験研究用としてご使用下さい。研究目的以外の用途には使用しないで下さい。

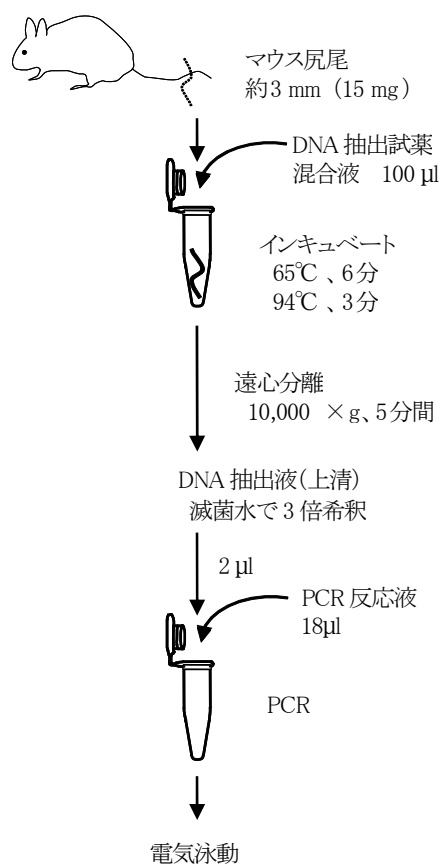
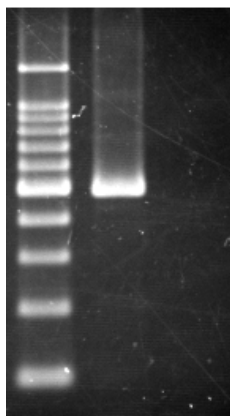
関東化学株式会社
試薬事業本部
〒103-0022 東京都中央区日本橋室町 2 丁目 2 番 1 号 (03)6214-1090
〒541-0048 大阪市中央区瓦町 2 丁目 5 番 1 号 (06)6231-1672
〒812-0007 福岡市博多区東比恵 2 丁目 22 番 3 号 (092)414-9361
《URL; http://www.kanto.co.jp/, e-mail; reag-info@gms.kanto.co.jp》

Cat No. 08199-96

取　扱　説　明　書

分子生物学用

シカジーニアス® DNA 抽出試薬 AN

シカジーニアス® DNA抽出試薬 ANを用いたマウス尻尾からのDNA抽出とPCRによるβ-globin遺伝子の増幅例

- 試薬 a 液、試薬 b 液を 1:10 の比率で混合し、DNA 抽出試薬混合液を調製した。
- 3 mm のマウス尻尾をマイクロチューブに入れた。
- DNA 抽出試薬混合液を 1 検体あたり 100 µl 加え、スピンダウンした。
- ヒートブロックを使用してインキュベートした。
- インキュベート後の溶液を遠心分離した(10,000×*g*、5 分間)。
- 本増幅例では、上清を滅菌水で 3 倍希釈し、これをテンプレート DNA として PCR を行った。

PCR 反応液組成:

テンプレート DNA	2.0 ul
AptaTaq DNA Master（5x conc.）	4.0 ul
Primer-Forward（10 pmol/µl）	1.0 µl
Primer-Reverse（10 pmol/µl）	1.0 µl
滅菌水	12.0 µl
合計	20.0 µl

反応条件:

(94℃ 30 秒, 60℃ 90 秒, 72℃ 60 秒)×30 回
→72℃ 7 分

電気泳動条件:

3% TBE アガロースで泳動後、臭化エチジウム溶液に 30 分間浸し、トランスイルミネーターでバンドを検出した。

M 分子量マーカー（100 bp DNA Ladder）
1. シカジーニアス® DNA 抽出試薬 AN による DNA 抽出液
2. 水による DNA 抽出液

増幅遺伝子:マウス β-globin 遺伝子（494 bp）
プライマー配列は以下の文献を参照。
Konkel DA, et al.（1978）. *Cell* 15, 1125-1132.

マウス尻尾以外のアプリケーションについては、弊社までお問い合わせください。

関東化学株式会社
試薬事業本部
〒103-0022 東京都中央区日本橋室町 2 丁目 2 番 1 号 (03)6214-1090
〒541-0048 大阪市中央区瓦町 2 丁目 5 番 1 号 (06)6222-2796
〒812-0007 福岡市博多区東比恵 2 丁目 22 番 3 号 (092)414-9361
《URL; http://www.kanto.co.jp/, e-mail; reag-info@gms.kanto.co.jp》